

14. HIV (3)

—HIV 調節遺伝子による感染性の制御機構—

酒井 博幸

HIV (human immunodeficiency virus) はヒトの AIDS (acquired immune deficiency syndrome) の病原因子である。HIV はレトロウイルス科に属しており、そのグループには MuLV (マウス白血病ウイルス)、ALV (トリ白血症ウイルス) が含まれている。レトロウイルスの生活環に見られる特徴はウイルスゲノムの RNA を逆転写酵素によって DNA に変換し、さらにその DNA を宿主細胞の染色体へと組み込む点にある。いったんレトロウイルスの感染が成立するとその細胞はウイルスゲノム情報を持ったまま分裂し続け、細胞寿命が尽きるまでウイルスと共存することになる。MuLV ではウイルスゲノムは3つの遺伝子 (gag, pol, env) をコードしており、これらの遺伝子が LTR (long terminal repeat) と呼ばれる転写調節領域の制御の下で一つの転写ユニットからスプライシングや蛋白翻訳のフレームシフトなどを利用して発現している。gag はウイルス粒子形成に関わる蛋白、pol は逆転写酵素などの酵素活性、env は宿主細胞への吸着・侵入に関わる外被蛋白をコードしている。複製能を持つレトロウイルスとしてはこの3つの遺伝子が最小限必要であるが、HIV ではゲノム上にその他に少なくとも6つの遺伝子を持っており、これらの遺伝子は制御遺伝子と呼ばれている (図1)。MuLV が実験マウスでの発癌性などを指標に選択されてきた、どちらかというとなり人為的なウイルスであるのに対し、HIV は強い病原性を示し野生的なウイルスの性格を持つ。すなわち、HIV は宿主の防御機構から逃れ、宿主と静かに共存することなく宿主の免疫機構を積極的に改変することで独自の病原性を示すが、HIV のこのような性質には HIV 独自の制御遺伝子が関わっている可能性がある。この overview では HIV の制御遺伝子の機能に関する情報を整理し、今後の課題を提示したい (表1)。

必須制御遺伝子 tat・rev

HIV の6つの制御遺伝子のうち、通常の培養細胞系でウイルス増殖に必須であることが明らかなのは tat と rev

京都大学ウイルス研究所癌ウイルス研究部門 (〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町53)

Regulatory mechanisms of virus infectivity by HIV accessory genes.

HiroYuki Sakai

Department of Viral Oncology Institute for Virus Research Kyoto University

Sakyo-ku, Kyoto 606-8507 Japan

である。tat はウイルス RNA の5'領域に形成される TAR と呼ばれる高次構造に結合し、RNA の転写を活性化する。その効果はきわめて大きく、tat 非存在下ではLTRからの転写はごく微弱なものとなる。tat の機能によってウイルス遺伝子発現の ON/OFF を切り替えられることは、感染個体内でのウイルスの保持のために重要であると考えられる。個体内でのウイルスと宿主の防御機構との熾烈な争いを考えると、特定の細胞に静かに潜み、その細胞をリザーバーにして生き残ることはウイルスにとって重要である。tat による転写活性化機構にはまだ不明な部分が残っているが、主要な機構は明らかになってきている (図2)。

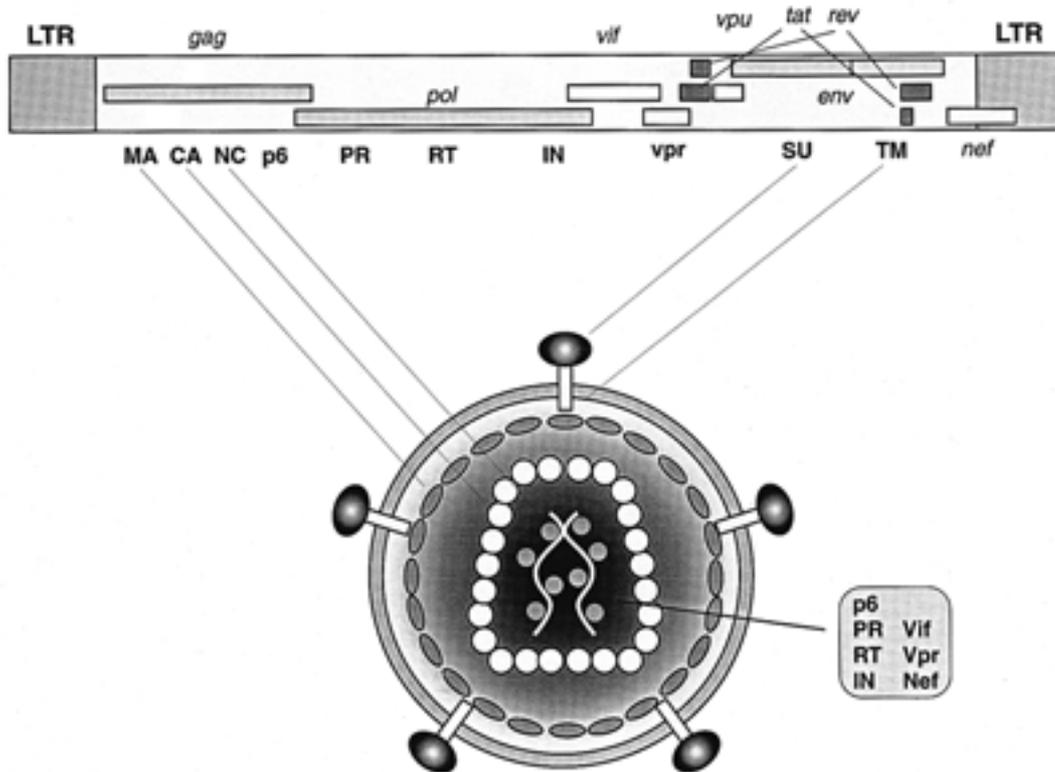


図1 HIV-1のゲノム構造とウイルス粒子

表1 HIV-1 制御遺伝子の生物活性

<i>tat</i>	Transcriptional transactivation of HIV-1 LTR
<i>rev</i>	Nuclear export of late HIV-1 mRNAs
<i>nef</i>	Down-regulation of cell surface CD 4 /MHC I Enhancement of virion infectivity Effect on cellular signal transduction
<i>vpu</i>	Degradation of CD 4 in the ER Enhancement of virion release
<i>vpr</i>	Induction of G 2 arrest/apoptosis PIC transport into nucleus
<i>vif</i>	Virion infectivity factor

tat は転写開始部位の RNA に結合し、そこへ p-TEFb と呼ばれる転写伸長因子をリクルートする。p-TEFb は転写複合体中の pol II の CTD (C-terminal domain) をリン酸化し、複合体の伸長反応を促進・安定化する。この p-TEFb は Cyclin T 1 と cdk 9 から構成されており、その活性制御機構は明らかではないが、T 細胞の活性化状態に応じて変化する可能性が示されている。つまり静止期の T 細胞では p-TEFb のレベルが低く、*tat* を介した転写活性化が起こらないためにウイルスは潜伏化できるというモデルである。同様の制御機構はマクロファージなどでも成り立つと

考えられる。転写レベルでの潜伏化の調節には *tat* のほかに NF- κ B などに関わるとされ、*tat* のみで説明できるものではないが、p-TEFb による *tat* 活性の制御は魅力的なモデルに思える。しかしながらこのモデルを否定するような報告も出されており、*tat* の存在意義は未解決の問題である。

rev は NLS (nuclear localization signal) と NES (nuclear export signal) を含み、さらに RRE と呼ばれる RNA 上の高次構造と結合する RRM (RNA recognition motif) を持つ (図3)。細胞質で合成された *rev* は NLS と β -importin との相互作用によって核内へと輸送される。核内では RRE を持つウイルス RNA と結合し、*rev* によりタグされた RNA は NES と hCRM 1 (exportin) の相互作用により細胞質へ輸送される。つまり *rev* の主な機能は、核内と細胞質を往復しながら RRE を持つウイルス RNA を細胞質へ輸送することである。HIV ゲノムから発現される RNA は全長のもの (約 9 kb)、一度スプライスされたもの (約 4 kb)、完全にスプライスされたもの (約 2 kb) に分けられ、実際には25種類以上の異なる mRNA が一つの転写ユニットから作成されている。このように HIV では alternative splicing 機構を利用して限られたサイズのゲノムから多くの情報を引き出している。そのために不完全にスプライスを受けたもの (9 kb と 4 kb) も細胞質へ輸送する必要がある。スプライスのシグナルはスプライシン

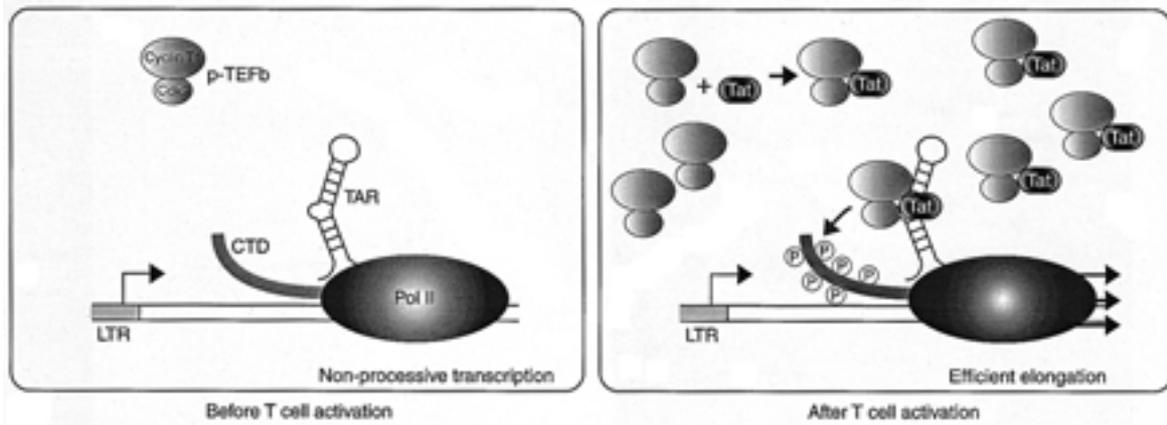


図2 tatの転写活性化機能

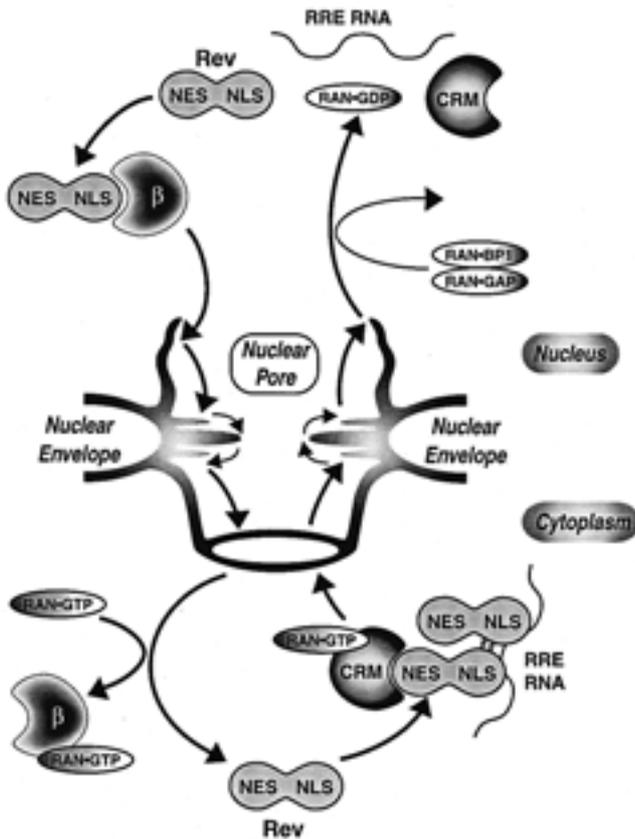


図3 revによるRNAの核外輸送

グ関連蛋白に認識されることで、核内への retention シグナルとなる。また HIV の RNA には他にも核外輸送を抑制する配列があることが報告されている。rev はこのような問題を回避するために機能している。rev の研究によって見出された蛋白の核・細胞質間移行は、その後の細胞生物学に大きなインパクトを与え、この領域の研究は細胞生物学の幅広い領域で活発に行われている。

アクセサリ-遺伝子 nef, vpu, vpr, vif

6つの制御遺伝子の中で tat と rev を除く4つはウイルスの複製に必ずしも必須ではないことからアクセサリ-遺伝子と呼ばれることがある。ただし「野生的」で error-prone な逆転写酵素を持つ HIV がこれまでの歴史の中で保持してきたものであることから、個体内でのウイルス増殖（宿主防御機構からの escape, 潜伏化, 特定の細胞での増殖など）や免疫不全状態の誘導などに重要な機能を持つことは明らかである。アクセサリ-遺伝子の機能に関してはこれまでに多くの報告が出されているが、*in vitro*（培養細胞）条件では未だにその重要性が明らかでないものが多い。ここではいくつか代表的なものについて整理してみる。

1. nef と vpu による CD 4 分子の発現抑制

HIV は標的細胞に感染する時にレセプターとして CD 4 分子を利用する。MuLV などでは感染細胞に発現している env タンパク質がレセプター分子と会合することで細胞表面のレセプター発現を抑制し、重感染を防いでいることが知られている。HIV においても env 蛋白が同様の機能を持つと考えられるが、それに加えて nef と vpu の遺伝子産物が CD 4 分子の分解を促進している（図4）。nef は細胞表面の CD 4 細胞質内ドメインと結合し、同時に小胞輸送に関わるアダプター分子と相互作用する。これによって CD 4 はエンドソーム、さらにリソゾームへと輸送され分解されてしまう。vpu は ER 上で CD 4 分子と結合する。CD 4-vpu 複合体は β -TrCP と呼ばれるユビキチンリガーゼに認識され、ユビキチン化されることでプロテアソームによる分解を受ける。HIV では vpr も CD 4 発現の抑制に関わるという報告もあり、感染細胞においては CD 4 の発現を徹底的に抑制することが重要であるようにみえるが、問題はその意義である。先に述べたように感染細胞が

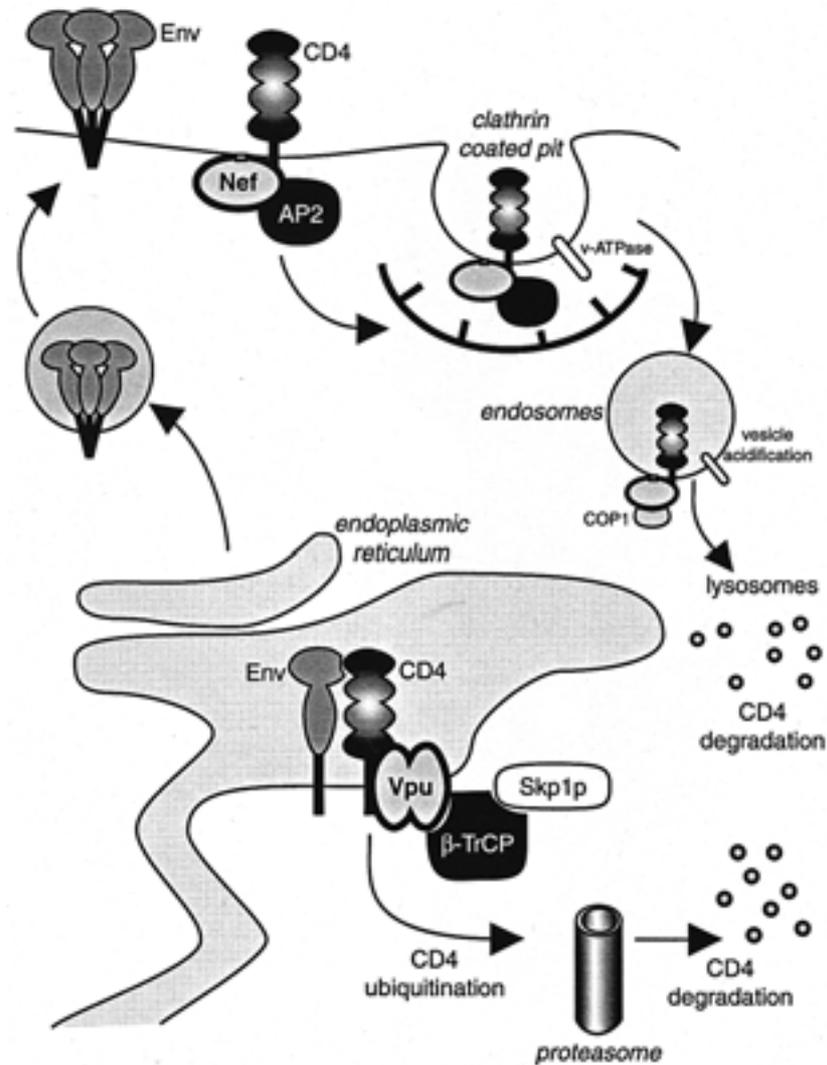


図4 nef と vpu による CD 4 分子の発現抑制機構

らレセプター分子を無くすことは重感染 (super-infection) を抑制する上で重要である。特に HIV では重感染は細胞障害性を示すことが報告されており、感染細胞が生き残りできるだけ多くの子孫ウイルスを産生する上で意味があるかもしれない。リンパ節などで活発にウイルス産生している場合には重感染はあり得るが、それを防ぎ細胞を生き残らせる意義はよく分かっていない。それに対してウイルスが潜伏化しているマクロファージなどは、リザーバーとして感染細胞が生き残る必要があるので重感染阻止は重要であると考えられる。またウイルス感染細胞での CD 4 の発現は、産生される子孫ウイルスの感染性を低下させるという報告があり、我々も同様の現象を見出している。CD 4 分子の発現抑制の意義に関しては生体内での検証が行われておらず、感染動物を利用した実験で詳しく確かめる必要がある。

2. nef と vpu のその他の機構

nef は表 1 に示したように多機能性が報告されており、特にウイルスの感染性を高める点は生理的な意義として分かりやすい点である。これに関する機構としては nef と宿主のキナーゼ群との相互作用や、先の CD 4 分解との関連が示唆されているが、実際の作用点は未だ明らかではない。nef と相互作用する因子も非常に多く報告されており、そのすべての意味を理解するには更なる研究が必要であろう。また vpu はウイルス粒子放出の促進効果を持ち、ウイルスの感染実験などではその効果は明らかである。SIV などでは vpu のこの機能は env が補っている。vpu によるウイルス粒子放出には vpu によって構成されるイオンチャンネル活性に関わるという知見があるが、他にもユビキチン経路が関与している可能性も残されている。vpu によるウイルス放出の調節はウイルス生活環にどのような意味を持つのだろうか。vpu 欠損ウイルスは細胞表面

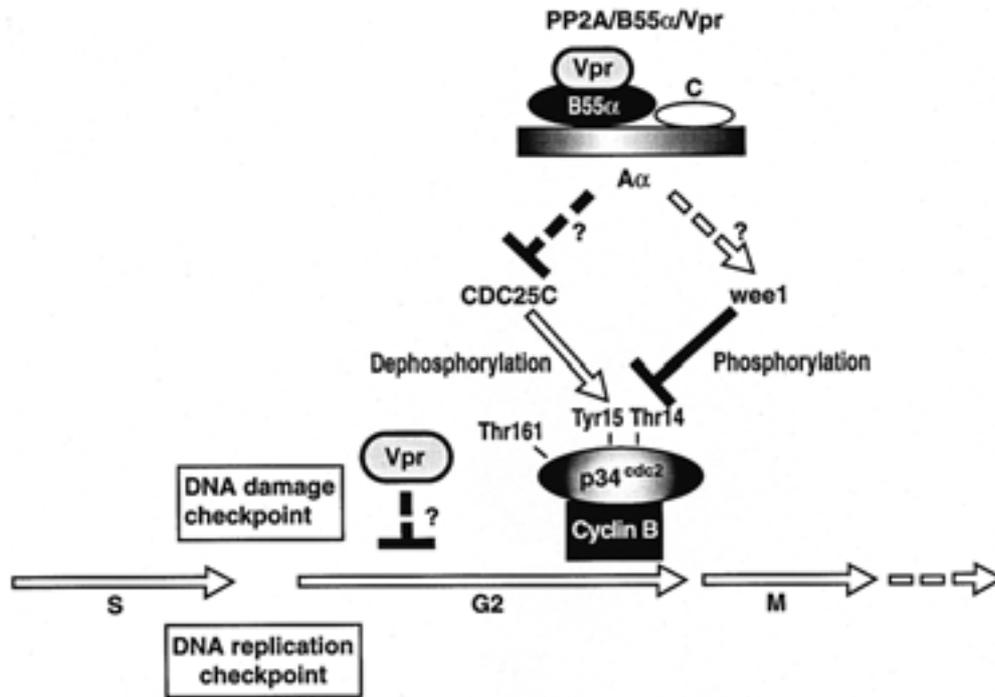


図5 vprによるG2/M期細胞増殖停止機構

に付着したままの状態であるが、ウイルス粒子としては成熟しており感染性を持っている。このことから vpu が機能しないような細胞では遊離のウイルスは少なく、ウイルス伝搬形式としては細胞接触を介した細胞間伝搬が主体となると考えられる。個体内の特定の組織において、あるいは感染の進行する特定の時期に、このようにウイルスの伝搬形式を変換することはウイルスが生き残る上で重要なかもしれない。

3. vpr による PIC の核内輸送

vpr は通常の T 細胞を用いた感染実験ではあまり重要でないように見える。しかし成熟型のマクロファージへの感染に対しては促進的に働いている。MuLV などのレトロウイルスでは、感染後に細胞質中で合成された逆転写産物を含む PIC (pre-integration complex) を核内に運び込むためには M 期を通り、核膜の break-down が起こる必要がある。そのためこれらのウイルスは非分裂細胞であるマクロファージにはとても感染しにくい。それに対して HIV は効率よくマクロファージに感染できる。つまり積極的に PIC を核内へ運び込む機構を利用しているということであり、この機能に vpr が関与していると考えられる。この機構については日本でも理研の蒲田先生らによって詳細な解析が加えられており、詳細は原著を見ていただきたい。なお、PIC の核移行には他に MA, IN, DNA のフラップなどが関わるものが示されており、必ずしも vpr の活性のみで理解されるものではない。

4. vpr による細胞周期停止

vpr を発現する細胞は分裂を G2/M 期に停止することが知られている。感染細胞の増殖性を低下させることは一見レトロウイルスにとって有利とは思えないが、HIV 感染 T 細胞は分裂寿命があり、また HIV による細胞障害性も現れるので、vpr によって細胞増殖を止めておくことにより、長くウイルス産生細胞が生き延びる可能性はある。また G2 期には LTR からの転写活性が高くなるという報告もあり、細胞を G2/M 期にとどめることにも意義があるのかもしれない。この分子機構はまだ解明されていないが、最も分かりやすいモデルを図示した (図5)。vpr は PP2A と相互作用することで CDC25C の活性を押さえ、また wee1 の活性を高めているというものである。その結果、G2/M 期の制御に関わる CyclinB/cdc2 複合体の活性が押さえられ、細胞は M 期に入ることができない。vpr による細胞周期制御活性は非常に強く、ウイルスを離れて細胞周期の研究としても興味深い。

また vpr は apoptosis を誘導する活性も持つ。HIV の他の遺伝子も apoptosis の制御に関わるものが多く見つかっており、それらの中には proapoptotic・prosurvival の両方の活性を示すものもある。これらは実験条件の違いによる可能性もあるが、それらの生理的な意義を検討することは重要であると思われる。prosurvival、つまり apoptosis からの回避はウイルス感染細胞を生き長らえさせるために重要であることは間違いない。多くのウイルスで同様の機能を持つ遺伝子が見つかっている。反対に apoptosis を誘

導することの意味はなかなか理解しがたい。AIDS という非常に特殊な病原性を示す上で、この vpr の機能が関与している可能性はあるが、この点については今後動物実験などで詳細に解析する必要があると思われる。

5. vif の機能について

vif は名前の通り virion の infectivity を制御する因子である。その効果は大きく、アクセサリ遺伝子の中にあつて必須遺伝子と呼べるほどである。その活性はわかりやすい反面、その作用点・分子機構についてはほとんど分かっていない。コア構造の安定性に重要である・virion 内（つまり感染初期）での逆転写反応を促進する・Hck による感染性阻害作用を打ち消す、などが報告されているが、なかなかその機能の実体は見えてこない。HIV の感染性を規定する重要な因子であることから、その作用機構の解明は抗 HIV 剤開発の手がかりとなる可能性が高い。

この overview ではアクセサリ遺伝子の機能についてスペースを割いたが、ここまで読んでいただいで分かるように、その活性の意義や作用機序など、分からないことがまだまだ多く残されている。HIV 研究には一時期、世界中の多くの研究者が参加し、過去に例を見ない早さで解析が進められ、多くの情報を得ることができた。そして現在残っている課題は容易には解決できないもののように思われる。しかし、HIV やレトロウイルス研究者だけではなく、他のウイルス研究に携わる人や、全く異なる領域の研究者が参加することで新しい切り口が見つけられる可能性がある。実際に vpr や nef, CRM による核外輸送など、現在も幅広い領域の研究者が参加しており、その成果はウイルス学に留まらない。読者のうち、HIV 研究のどこか一点でも興味を持つ方がおられれば是非参加して、新しい HIV 研究の進展に貢献していただきたい。